

РАННИЕ ПРИЗНАКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ФЕОХРОМОЦИТОМОЙ ПО ДАННЫМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТО-МАСС- СПЕКТРОМЕТРИИ

Иванушко М.А., Великанова Л.И., Ворохобина Н.В., Шафигуллина З.Р.

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.

Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия,

кафедра эндокринологии им. В.Г. Баранова, НИЛ хроматографии

Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная д. 41

email- maria.ivanushko@yandex.ru

тел. 8-911-291-2878

Резюме. В статье приведен анализ стероидных профилей мочи методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) 52 пациентов с феохромоцитомой (ФХ), из которых у 12 пациентов установлено агрессивное течение опухоли (больше 4 баллов по шкале PASS). Контрольную группу составили 28 пациентов с аденокортикальной аденомой (АКА) без злокачественного потенциала с артериальной гипертензией (АГ). У пациентов с ФХ с агрессивным течением была увеличена экскреция с мочой андрогенов (этиохоланолон, дегидроэпиандростерон и его метаболитов), метаболитов прогестиннов [прегнандиол (P2), прегнантриол (P3), прегнентриол (dP3), 16-ОН-прегнандиол (16dP2)] и тетрагидро-11-дезоксикортизола (THS) в сравнении с показателями пациентов с АКА и ФХ без злокачественного потенциала. У пациентов с ФХ с агрессивным течением были обнаружены неклассические 5-ene-прегнены: 16-ОН-прегненолон, 21-ОН-прегненолон, 21-ОН-прегнандиол, dP3-3 β , 16dP2-3 β и 11-ОН-dP3. Повышенная экскреция с мочой андрогенов и THS в сочетании с увеличением экскреции с мочой P2, P3 и наличием неклассических 5-ene-прегненов по данным ГХ-МС имеют высокую чувствительность и специфичность при диагностике злокачественной феохромоцитомы и могут быть ее ранними признаками.

Ключевые слова: феохромоцитома, объемное образование надпочечника, злокачественный потенциал, газовая хромато-масс-спектрометрия, стероидный профиль мочи.

**EARLY FEATURES OF MALIGNANCY IN PATIENTS WITH
PHEOCHROMOCYTOMA BY GAS CHROMATOGRAPHY MASS SPECTROMETRY**

Ivanushko M.A., Velikanova L.I., Vorokhobina N.V., Shafigullina Z.R.

Federal Budget Institution of Higher Education “North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov” under the Ministry of Public Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russian Federation

Abstract

The article presents an analysis of urinary steroid profiling getting by gas chromatography-mass-spectrometry (GC-MS) of 52 patients with pheochromocytoma, 12 patients had pheochromocytoma (PCC) with aggressive course of the tumor based on PASS score greater than 4 (PCC + MP).

The control group consisted from 28 patients with adrenocortical adenoma (ACA) without malignant potential (MP). Urinary excretion (UE) of androgens (etiocholanolone, dehydroepiandrosterone and its metabolites), progestin metabolites [pregnanediol (P2), pregnanetriol (P3), pregnetriol (dP3), 16-OH-pregnenodiol (16dP2) tetrahydro-11-deoxycortisol (TNS) was increased in patients with PCC and aggressive course of the tumor in comparison with patients with ACA without MP. Non-classical 5-ene-pregnenes: 16-hydroxypregnenolone (16dP), 21dP, dP3-3 β , 16dP2-3 β , were detected in patients with PCC+MP. Increased urinary excretion of androgens and THS in combination with the elevation of P2, P3 and the presence of non-classical 5-ene-pregnens detected by GC-MS analyses had high sensitivity and specificity in diagnostic of malignancy PCC and may be it's early features.

Keywords: pheochromocytoma, adrenal gland tumor, malignant potential, gaschromatography-mass-spectrometry, urinary steroid profiling

Введение

Феохромоцитома – это редкая катехоламин-секретирующая опухоль мозгового слоя надпочечников, у пациентов с гипертонической болезнью встречается менее чем в 0,2% случаев [1,2]. У пациентов с инциденталомиями надпочечников распространенность феохромоцитомы варьируется от 4% до 6,5% [7].

Своевременное обследование функционального состояния надпочечников у пациентов со злокачественным течением артериальной гипертензии (АГ) позволяет диагностировать феохромоцитому и назначить правильное лечение [3].

Большинство из ФХ являются доброкачественными, но распространенность злокачественных новообразований варьируется примерно от 10% до 26% в зависимости от того, по каким признакам определяется злокачественность [4,5].

Современное понимание, отраженное в четвертом издании классификации ВОЗ 2017 года, состоит в том, что все ФХ имеют некоторый метастатический потенциал [6]. Риск развития метастазов может быть очень низким в полностью резецированной ФХ, но все равно нельзя рассматривать такую опухоль как «доброкачественную». Поэтому классификация на «доброкачественные» или «злокачественные» в контексте ФХ заменена концепцией стратификации риска с пониманием того, что все ФХ могут метастазировать, но некоторые обладают более высоким риском, чем другие. Повышенный риск имеют опухоли размером более 5 см [7]. Некоторые гистологические признаки ФХ связаны с повышенным риском метастазирования [8,9]. Гистологическая послеоперационная диагностика не всегда является достоверной. Наиболее используемой для оценки риска злокачественности является шкала PASS, разработанный Томпсоном в 2002 году [10, 11]. Согласно этой шкале, опухоли с суммой баллов ≥ 4 считались биологически более агрессивными. Тем не менее, гистологическое исследование не может точно диагностировать злокачественность или предсказать послеоперационное течение опухоли [12, 13]. Актуальным является поиск биохимических маркеров злокачественного потенциала ФХ.

Материалы и методы. Было обследовано 52 пациента с ФХ (32 женщины и 20 мужчин) в возрасте 51 ± 2 года с ИМТ $= 24,7 \pm 0,5$ кг/м² и 28 пациентов с адренокортикальной аденомой (АКА) без злокачественного потенциала по шкале L.M. Weiss и с артериальной гипертензией (АГ) (16 женщин и 12 мужчин) в возрасте $51,5 \pm 1,7$ года с ИМТ $= 26,5 \pm 0,8$

кг/м², которые составили группу контроля. Методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли уровни хромогранина А, метанефрина (МН) и норметанефрина (НМН) в плазме крови, содержание свободных метанефрина (UMN) и норметанефрина (UNMN) в моче. Стероидные профили мочи (СПМ) исследовали методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) с использованием газового хромато-масс-спектрометра Ресурсного центра «Методы анализа состава веществ» СПб ГУ. Всем пациентам была выполнена КТ области надпочечников с контрастированием с измерением плотности образования в ед HU во все фазы исследования и расчетом абсолютного (APW) и относительного (RPW) процента вымывания контрастного вещества. Пациентам с ФХ и пациентам с размером образований надпочечников больше 4 см проводилась адреналэктомия с дальнейшим гистологическим исследованием. Гистологическая оценка удаленных феохромоцитом производилась согласно шкале признаков, предполагающих малигнизацию опухоли (PASS), предложенную L. Thompson [7], которая включает 12 гистологических признаков. Сумма баллов более 4 по шкале PASS характеризует потенциально агрессивное течение опухоли. Пациенты с злокачественным потенциалом 1 – 3 балла, оцениваемым по шкале L.M. Weiss, были исключены из группы с АКА.

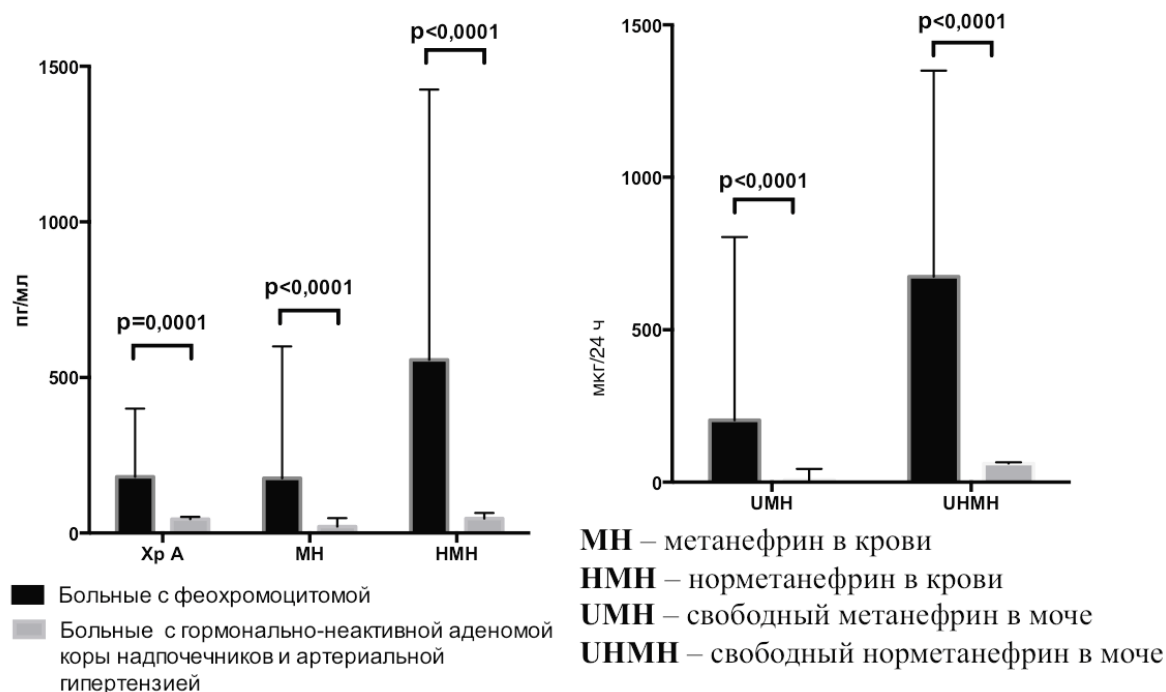
Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программной системы STATISTICA for WINDOWS (версия 7). Количественные показатели представлены в виде Me (LQ-UQ), где Me – медиана, LQ – нижний квартиль, UQ – верхний квартиль. Использовался непараметрический критерий Манна-Уитни при сравнении результатов, полученных в исследуемых группах. Статистически значимым считался критерий достоверности $p < 0,05$.

Для оценки чувствительности и специфичности полученных признаков при диагностике злокачественной ФХ был применен метод ROC-анализа. Кроме графика ROC-кривой, для оценки качества модели применялась характеристика площади под кривой ROC AUC (Area Under ROC).

Результаты.

Диагноз ФХ у больных с объемным образованием надпочечника был поставлен на основании увеличения уровней МН и НМН в плазме крови и экскреции свободных UMN и UNMN с мочой в сравнении с пациентами с АКА (график 1).

График 1. Подтверждение диагноза феохромоцитомы по данным иммуноферментного анализа



У всех пациентов с ФХ отмечалось повышение артериального давления (АД). Пароксизмальное повышение АД на фоне нормального АД отмечалась у 34 (65,4%) больных, на фоне исходно повышенного АД – у 12 (24,5%) больных, постоянно повышенное АД было выявлено у 18 (34,6%) больных (табл. 1).

Таблица 1 – Уровни артериального давления у пациентов с феохромоцитомой и больными с гормонально-неактивной аденомой коры надпочечников и артериальной гипертензией

Характеристика	Пациенты с феохромоцитомой (n=52)	Больные с гормонально-неактивной аденомой коры надпочечников и артериальной гипертензией (n=28)
Пароксизмальное повышение АД	34 (65,4%)	21 (75%)
В т.ч. с высокими цифрами АД в межприступный период	12 (24,5%)	2(7,1%)
Постоянное повышенное АД	18 (34,7%)	7 (25%)

По данным клинических проявлений большинство пациентов с ФХ предъявляли жалобы на головные боли лобно-височной и теменной области (73,5%), общую слабость (59,2%), учащенное сердцебиение (46,9%), головокружение (34,7%), боли в поясничной области (28,6%).

По данным КТ надпочечников с контрастированием одностороннее поражение было выявлено у 45 пациентов с ФХ (86,5%), двустороннее – у 7 больных (13,5%). У пациентов с ФХ размер опухолей надпочечников, выявленных с применением КТ, находился в пределах от 12 до 101 мм. Средний диаметр составил $46,6 \pm 3,5$ мм.

У части пациентов с ФХ по данным КТ надпочечников опухоли имели размер в среднем 56,6 мм (40-76), ровные четкие контуры, неоднородную структуру, преимущественно за счет кальцинатов, некрозов и кровоизлияний, с нативной плотностью 44 (37-56) HU, APW=37 (13,5-44) %, RPW = 32 (19-40) %. У больных с АКА размер опухоли составлял 34 (28-49) мм, нативная плотность была 10 (5-18) HU. и характеризовалась ровными контурами, однородной структуры.

У 14 пациентов с ФХ, по данным гистологического исследования послеоперационного материала, сумма баллов по шкале оценки злокачественности PASS была более 4, что свидетельствовало о биологически агрессивном поведении опухоли (ФХ+АТ). Характеристика пациентов с ФХ+АТ и аденокортикальной аденомой (АКА) без злокачественного потенциала (ЗП) по шкале WeissL.M. представлена в таблице 2.

Таблица 2– Характеристика пациентов с феохромоцитомой с агрессивным течением опухоли и аденокортикальной аденомой без злокачественного потенциала

Группы	Возраст	Количество (М:Ж)	Размер опухоли (мм)	Нативная плотность HU
Феохромоцитома с агрессивным течением опухоли больше 4 баллов по системе PASS	50 (47-53)	12 (4:8)	57 (40-63)	44 (37-56)
Аденокортикальная аденома без злокачественного потенциала по шкале WeissL.M.	48 (43-57)	28 (9:19)	34 (28-49)	10 (5-18)

У всех больных были изучены СПМ методом ГХ-МС. У пациентов с ФХ+АТ методом ГХ-МС было выявлено увеличение экскреции с мочой андрогенов: этиохоланолон (Et), DHEA и его метаболитов: 16α -ОН-DHEA, 16β -ОН-DHEA, андростендиол-17 β (dA2-17 β) и андростентриол (dA3). У пациентов с ФХ была получена положительная корреляционная связь ($p<0,05$) между экскрецией с мочой Et ($r=0,66$), DHEA ($r=0,74$) и суммой баллов по шкале PASS, характеризующей степень злокачественности ФХ. Экскреция с мочой DHEA >1500 мкг/24 ч, одного из основных маркеров аденокортикального рака (АКР), была выявлена у 3-х пациентов с ФХ+АТ с суммой баллов по шкале PASS 8 – 14.

Экскреция с мочой прогестинов (P2, P3, dP3, 16dP2) и THS была увеличена у пациентов с ФХ+АТ по сравнению с больными с АКА и отсутствием ЗП. Следует отметить, что экскреция с мочой андрогенов (Et, DHEA, 16α -ОН-DHEA, dA3), P3, dP3, 16dP2 и THS у пациентов с ФХ+АТ была также повышена в сравнении с пациентами с ФХ без АТ (табл. 3).

Таблица 3 – Экскреция основных стероидов с мочой у больных аденокортикальной аденомой (АКА) и отсутствием злокачественного потенциала (МР) 1-3 балла по шкале WeissL.M. и феохромоцитомой с агрессивным течением опухоли с суммой баллов >4 по системе PASS;

Названия стероидов	Me (LQ-UQ), мкг/24 ч			P ₁₋₂
	АКА без ЗП (n=28)	ФХ агрессивным течением (n=12)	ФХ без агрессивно го течения (n=41)	
	1	2	3	
Андростерон (An)	466 (274-574)	1145 (310-2574)	522 (179-951)	0,06
Этиохоланолон (Et)	324 (151-428)	1063 (965-2080) P=0,03	579 (207-881)	0,03
Андростендиол-17β (dA2-17β)	71 (35-91)	197 (154-3284) P=0,009	91 (35-125)	0,02
Дегидроэпиандростерон (DHEA)	59 (35-150)	579 (211-1538) P=0,016	169 (49-296)	0,008
16α-ОН-DHEA	88 (43-156)	207 (112-591) P=0,026	48 (17-76)	0,04
16β-ОН-DHEA	151(38-245)	340 (147-454)	152 (67-279)	0,02
Андростентриол (dA3)	114 (55-177)	252(148-542) P=0,03	143 (68-218)	0,04
16-оксоандростендиол (16-охо-dA2)	54 (27-73)	125 (55-178)	46 (24-93)	0,08
Прегнандиол (P2)	220 (186-409)	963(508-2214)	429 (185-889)	0,04
Прегнантриол(P3)	538 (387-781)	1327 (975-2073) P=0,02	537 (244-778)	0,02
5-Прегнен-3α,16α,20α-триол (16-ОН-dP2)	98(43-149)	416 (320-473) P=0,005	134 (82-210)	0,002
5-Прегнен-3α,17α,20α-триол (dP3)	140 (93-228)	435 (198-706) P=0,006	136 (80-257)	0,015
Тетрагидро-11-дезоксикортизол (THS)	65 (49-92)	182 (126-536) P=0,006	75 (38-99)	0,004
Примечание: p₁₋₂– достоверность различий показателей больных феохромоцитомой (ФХ) с показателями больных с аденокортикальной аденомой (АКА) без злокачественного потенциала (ЗП) P – достоверность различий показателей больных феохромоцитомой (ФХ) с агрессивным течением с показателями больных ФХ без агрессивного течения.				

Кроме этого у пациентов с ФХ была получена положительная корреляционная связь ($p < 0,05$) между экскрецией с мочой P2 ($r=0,79$), dP3-3 α ($r=0,68$), 16-ОН-dP2-3 α ($r=0,79$) и суммой баллов по шкале PASS, характеризующей степень злокачественности ФХ. Установлена положительная корреляция ($p < 0,05$) THS с UMN ($r=0,68$) и UNMN ($r=0,68$).

У пациентов с ФХ+АТ были детектированы неклассические 5-ene-прегнены: 16-ОН-прегненолон (16dP), 21-ОН-прегненолон (21dP), 3 β ,17,20-прегнентриол (dP3-3 β), 3 β ,16,20-прегнентриол (16-ОН-dP2-3 β), 21-ОН-прегнендиол (21dP2), которые не выявлялись у пациентов с ФХ и суммой баллов < 4 по шкале PASS и у больных с АКА без ЗП по шкале Weiss (табл.4).

Таблица 4 — Суточная экскреция неклассических 5-ene-прегненов с мочой, полученная методом газовой хромато-масс-спектрометрии, у прооперированных пациентов с феохромоцитомой (ФХ) с агрессивным течением (АТ)

Названия стероидов	Пациенты с ФХ и АТ n=12
16-гидроксипрегненолон	36 (26–125)
21-гидроксипрегненолон	40 (26–127)
3 β ,16,20-прегнентриол	552 (116– 989)
3 β ,17,20-прегнентриол	178 (20– 989)
21-гидроксипрегнендиол	198 (67–329)
11-гидроксипрегнентриол	117 (39–202)

Для оценки значимости лабораторных признаков при диагностике злокачественности у пациентов с ФХ с агрессивным течением нами был выполнен ROC-анализ. В таблице 5 представлены количественные характеристики ROC-анализа рассматриваемых шкал в виде сравнения характеристик площадей под их ROC-кривыми (AreaUnderCurve, AUC). По нашим данным $AUC \geq 0,8$ может указывать на высокую прогностическую силу модели.

100% специфичность для диагностики феохромоцитомы с агрессивным течением получена для Et, DHEA и 16-ОН-dP2, 100% чувствительность – для dP3, при этом 5 показателей имели чувствительность более 90% (dA2-17 β , DHEA, P2, P3 и dP3) (табл. 5).

Таблица 5 – Чувствительность и специфичность основных лабораторных признаков по данным ROC анализа для диагностики феохромоцитомы с агрессивным течением

Название стероидов	Феохромоцитома с агрессивным течением		
	Чувствительность	Специфичность	AUC (площадь под кривой)
Дегидроэпиандростерон (DHEA)	91,9	100	0,99
Андростендиол-17 β	90,2	81	0,93
Этиохоланолон	81,7	100	0,82
Тетрагидро-11-дезоксикортизол (THS)	87,8	86	0,93
Прегнандиол	93,3	74,2	0,87
Прегнантриол	93,3	77,4	0,91
Прегнентриол-3 α	100	63,8	0,90
16-гидроксипрегнендиол -3 α	82,6	100	0,95

Выводы

1. У пациентов с феохромоцитомой с суммой баллов по шкале PASS более 4 по данным газовой хромато-масс-спектрометрии получены признаки агрессивного течения: увеличение экскреции с мочой тетрагидро-11-дезоксикортизола, дегидроэпиандростерона, 17 β -андростендиола, этиохоланолона, прегнандиола, прегнантриола и метаболитов прегненолона и 17-гидроксипрегненолона.
2. У пациентов с феохромоцитомой была получена положительная корреляционная связь между экскрецией с мочой прегнандиола, 5-Прегнен-3 α ,17,20-триола, 5-Прегнен-3 α ,16 α ,20 α -триола и суммой баллов по шкале PASS.
3. По данным ROC-анализа для диагностики феохромоцитомы с агрессивным течением получена 100% специфичность экскреции с мочой этиохоланолона, дегидроэпиандростерона и 5-Прегнен-3 α ,16 α ,20 α -триола, 100% чувствительность – для 5-Прегнен-3 α ,17 α ,20 α -триола.

Список литературы

1. Волкова, Н.И. Особенности клиники и диагностики феохромоцитомы на современном этапе / Н.И. Волкова, О.И. Кит, М.И. Поркшеян, С.Н. Димитриади // Эндокринная хирургия. – 2015. – Т. 9, № 2. – С. 24-30.
2. Zelinka, T. Pheochromocytoma-why is its early diagnosis so important for patient? / T. Zelinka, J. Widimský // Vnitr Lek. –2015. –Vol. 61. – P. 487-491.
3. Zuber, S.M. Hypertension in pheochromocytoma: Characteristics and treatment / S.M. Zuber, V. Kantorovich, K. Pacak // Endocrinology Metabolism Clinics of North America. – 2011. – Vol. 40, № 2. – P. 295-311.
4. Мельниченко, Г.А. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике и лечению феохромоцитомы/параганглиомы / Г.А. Мельниченко [и др.] // Эндокринная хирургия. – 2015. – Т. 9, № 3. – С. 15-33.
5. de Wailly, P. Malignant pheochromocytoma: New malignancy criteria / P. de Wailly [et al.] // Langenbecks Arch Surg. – 2012. – Vol. 397. – P. 239-246.
6. Lam, A.K. Update on adrenal tumours in 2017 world health organization (WHO) of endocrine tumours / A.K. Lam // Endocr. Pathol. – 2017. – Vol. 28. – P. 213-227.
7. Kloeppe, G. Pathology and genetics of endocrine organs / G. Kloeppe, R. Lloyd, R. Osamura, J. Rosai. –4thed. –Lyon: IARC Press, 2017. – P. 179-195.
8. Lloyd, R.V. WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs / R.V. Lloyd, R.Y. Osamura, G. Klöppel, J. Rosai. – 4th ed. – IACR, Lyon, 2017. – 355 p.
9. Turchini, J. Pathology and genetics of phaeochromocytoma and paraganglioma/ J. Turchini [et al.] // Histopathology. – 2018. – Vol. 72. – P. 97-105.
10. Mlika, M. Prognostic value of Pheochromocytoma of the adrenal gland scaled score (Pass score) tests to separate benign from malignant neoplasms / M. Mlika [et al.] // Tunis Med. –2013. – Vol. 91. – P. 209-215.
11. Carlsen, E. Pheochromocytoma, PASS and Immunohistochemistry / E. Carlsen [et al.] // Horm Metab Res. – 2009. – Vol. 41. – P. 715-719.
12. Plouin, P.F. European Society of Endocrinology Clinical Practice Guideline for longterm follow-up of patients operated on for a phaeochromocytoma or a paraganglioma / P.F. Plouin [et al.] // European Journal of Endocrinology. – 2016. – Vol. 174, № 5. – P. 1-10.

13. Wang, W. Effectiveness and safety of laparoscopic adrenalectomy of large pheochromocytoma: A prospective, nonrandomized, controlled study / W. Wang [et al.] // Am J. Surg. –2015.–Vol. 210. – P. 230-235.